

· 研究报告 ·

高效液相色谱法测定麻杏口服液中盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的含量

张敏新, 黄爱文, 宋洪涛(南京军区福州总医院药学科, 福建 福州 350025)

[摘要] 目的 建立 HPLC 法测定麻杏口服液中盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的含量。方法 采用 Phenomenex Hydro-RP (250 mm×4.6 mm, 4 μm) 色谱柱, 以乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(含 0.1% 三乙胺)(B)为流动相, 梯度洗脱(0~20 min, 3%→10% A), 流速: 1.0 ml/min, 检测波长: 210 nm, 进样量: 20 μl。结果 盐酸麻黄碱在 0.99~39.6 μg/ml 范围内线性关系良好, $r=0.9999$, 平均回收率为 101.5%, RSD 为 1.77% ($n=6$); 盐酸伪麻黄碱在 1.09~43.6 μg/ml 范围内线性关系良好, $r=0.9999$, 平均回收率为 100.8%, RSD 为 1.96% ($n=6$)。结论 本法简便、可靠、准确, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 麻杏口服液; 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱; 高效液相色谱法

[中图分类号] R927.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2015)05-0445-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.05.017

Simultaneous determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Mxing oral solution by HPLC

ZHANG Minxin, HUANG Aiwen, SONG Hongtao (Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Command, PLA, Fuzhou 350025, China)

[Abstract] **Objective** To establish an HPLC method for determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Mxing oral solution. **Methods** Phenomenex Hydro-RP (250 mm×4.6 mm, 4 μm) was adopted. Acetonitrile (A) and 0.1% phosphonic acid solution (0.1% triethanolamine solution)(B) was used as gradient mobile phase(0-20 min, 3%→10% A) at flow rate was 1.0 ml/min and the program of UV gradient absorbance detection was 210 nm. The sample volume was 20 μl. **Results** A good linearity was obtained over the concentration range of 0.99-39.6 μg/ml for ephedrine hydrochloride ($r=0.9999$) and 1.09-43.6 μg/ml for pseudoephedrine hydrochloride ($r=0.9999$). The average recovery of ephedrine hydrochloride was 101.5% with RSD of 1.77% ($n=6$), and the average recovery of pseudoephedrine hydrochloride was 100.8% with RSD of 1.96% ($n=6$). **Conclusion** This method was simple, accurate and quick, which could be used for determination and quality control of Mxing oral solution with good selectivity and repeatability.

[Key words] Mxing oral solution; ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride; HPLC

麻杏口服液收载于《中国人民解放军医疗机构制剂规范》(2002年版)(以下简称《制剂规范》)由麻黄(炙)、瓜蒌皮、金银花、连翘、苦杏仁、枇杷叶、黄芩、石膏、甘草等9味中药材制得,具有清热化痰、宣肺平喘的功效,用于外感发热、咳嗽等症的治疗^[1]。

《制剂规范》只对麻杏口服液中黄芩、麻黄、金银花、枇杷叶等药材进行定性鉴别,无法有效控制制剂质量。目前,已有测定麻杏口服液中苦杏仁苷、绿原酸和黄芩苷含量^[2,3]的文献报道。方中麻黄为君

药,在麻杏口服液的药效作用中占有非常重要的地位,而盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱是麻黄的主要有效成分。本文建立了 HPLC 法测定麻杏口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量,为麻杏口服液的质量控制提供有效、合理的检测方法。

1 仪器与试药

1.1 仪器 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦);AL204 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);KQ-800KDE 型高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药 盐酸麻黄碱(含量:99.7%,中国食品药品检定研究院,批号:171241-201007);盐酸伪麻黄碱(含量:99.7%,中国食品药品检定研究院,批号:171237-200505);麻杏口服液(自制,批号:130920、

[基金项目] 军队医疗机构制剂标准提高科研专项重点课题(13ZJ01)

[作者简介] 张敏新,本科,药师,研究方向:中药制剂质量控制方法研究.Tel:(0591)22859169;E-mail:280361089@qq.com

[通讯作者] 宋洪涛,博士,主任药师,研究方向:药物制剂.Tel:(0591)83712298;E-mail:sohotd@vip.163.com

130925、130930);乙腈(色谱纯, Sigma-Aldrich 公司);磷酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 麻杏口服液的制备 取处方量各药材,加水浸泡2~4 h后,水蒸气蒸馏,收集蒸馏液200 ml,备用。取蒸馏后的药液另存,药渣加水煎煮2次,每次2 h,合并煎液与上述药液,置浓缩罐内,以0.04~0.07 MPa,60~70 °C减压浓缩至相对密度为1.10(60 °C)时,加2倍量乙醇(W/W),静置24 h以上,取上清液回收乙醇至无醇味,冷处放置24 h以上,离心,上清液加入蒸馏液,混匀,加单糖浆至含糖量达5%,调节pH为5.0~7.0,加水至1 000 ml,滤过,分装,100 °C流通蒸汽灭菌30 min,即得。

2.2 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:极性乙醚连接苯基键合硅胶柱(Phenomenex, 4.6 mm×250 mm, 4 μm);流动相:乙腈(A相)-0.1%磷酸溶液(含0.1%三乙胺)(B相),梯度洗脱:0~20 min, 3%→10% A;流速:1.0 ml/min;检测波长:210 nm;进样量:20 μl。

2.2.2 溶液的制备

2.2.2.1 对照品溶液 取盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品适量,精密称定,分别加0.1 mol/L的盐酸溶液制成含盐酸麻黄碱(7 μg/ml)和盐酸伪麻黄碱(4 μg/ml)的溶液,即得。

2.2.2.2 供试品溶液 精密量取本品5 ml,置25 ml量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,5 000 r/min离心5 min,精密量取上清液5 ml,置25 ml量瓶中,加0.1 mol/L的盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.2.2.3 阴性对照品溶液 根据处方及生产工艺制备缺麻黄的阴性样品,按供试品溶液的制备方法,制成阴性对照品溶液。

2.2.3 专属性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液,按上述色谱条件测定,记录色谱图。结果显示,阴性对照对盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的测定无干扰(图1)。在此条件下,盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱与其他色谱峰分离良好,保留时间分别为12.9 min和13.7 min,分离度为2.1。

2.2.4 线性关系考察

精密称取盐酸麻黄碱、盐酸

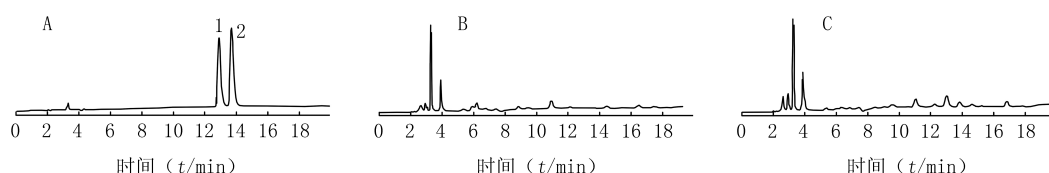


图1 对照品(A)、缺麻黄阴性样品(B)及供试品(C)HPLC色谱图

1.盐酸麻黄碱;2.盐酸伪麻黄碱

伪麻黄碱对照品各10 mg,置同一100 ml量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密量取10、8、5、2、1、0.5、0.25 ml置25 ml量瓶中,以流动相稀释至刻度,得系列浓度的盐酸麻黄碱(0.99~39.6 μg/ml)、盐酸伪麻黄碱(1.09~43.6 μg/ml)对照品溶液,分别精密吸取上述溶液各20 μl,注入高效液相色谱仪中,按照“2.2.1”项下色谱条件进行测定,分别以盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的浓度(C)为横坐标,峰面积(A)为纵坐标,进行线性回归,得线性方程分别为盐酸麻黄碱 $A = 38.4002C - 1.4363$ ($r = 0.9999$)、盐酸伪麻黄碱 $A = 43.0095C - 5.4382$ ($r = 0.9999$),结果表明,盐酸麻黄碱在0.99~39.6 μg/ml、盐酸伪麻黄碱在1.09~43.6 μg/ml浓度范围内线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 精密吸取“2.2.2.1”项下盐酸麻黄碱对照品溶液、盐酸伪麻黄碱对照品溶液,分别连续进样6次,测得盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱峰

面积的RSD分别为1.24%和1.03%,表明仪器的精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取“2.2.2.2”项下同一样品,分别于配制后0、2、4、6、8、10 h测定峰面积,结果盐酸麻黄碱RSD为1.33%,盐酸伪麻黄碱RSD为1.00%,表明供试品溶液在10 h内稳定。

2.2.7 重复性试验 精密量取同一批麻杏口服液(批号:130920),按照“2.2.2.2”项下供试品溶液的制备方法,平行制备6份供试品溶液,滤过,分别精密吸取续滤液20 μl,注入高效液相色谱仪中,按照“2.2.1”项下色谱条件进行测定。结果盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱峰面积的RSD分别为1.26%和1.62%,结果表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密量取同一批麻杏口服液(批号:130920)5 ml,共9份,置25 ml量瓶中,分别精密加入一定量盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品(加入量约为样品含量的80%、100%、120%),

用乙腈稀释至刻度,摇匀,5 000 r/min离心 5 min,精密量取上清液 5 ml,置 25 ml 量瓶中,加 0.1 mol/L 的盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,依法测定各成分含量,计算回收率。该方法回收率符合要求,结果见表 1。

表 1 盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱加样回收率试验结果(n=9)

成分	样品含量(m/mg)	加入量(m/mg)	实测量(m/mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
盐酸麻黄碱	0.88	0.66	1.53	99.35	99.78	0.75
	0.88	0.66	1.53	99.35		
	0.88	0.66	1.55	100.65		
	0.88	0.82	1.72	101.18	101.37	0.34
	0.88	0.82	1.73	101.76		
	0.88	0.82	1.72	101.18		
	0.88	0.98	1.89	101.61	101.79	0.30
	0.88	0.98	1.90	102.15		
	0.88	0.98	1.89	101.61		
盐酸伪麻黄碱	0.23	0.20	0.42	97.67	98.45	1.36
	0.23	0.20	0.43	100.00		
	0.23	0.20	0.42	97.67		
	0.23	0.25	0.47	97.92	97.22	1.24
	0.23	0.25	0.47	97.92		
	0.23	0.25	0.46	95.83		
	0.23	0.30	0.52	98.11	99.37	1.10
	0.23	0.30	0.53	100.00		
	0.23	0.30	0.53	100.00		

2.2.9 样品测定 取自制 3 批样品,按“2.2.2.2”项下供试品溶液制备方法制备成溶液,在“2.2.1”项的色谱条件下进行测定,计算供试品中各有效成分含量,结果见表 2。

表 2 盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱含量测定结果(mg/ml, n=3)

成分	样品批号	供试品			$\bar{x} \pm s$
		1	2	3	
盐酸麻黄碱	130920	0.176	0.156	0.153	0.162±0.013
	130925	0.168	0.171	0.165	0.168±0.003
	130930	0.183	0.180	0.181	0.181±0.002
盐酸伪麻黄碱	130920	0.046	0.038	0.032	0.039±0.007
	130925	0.047	0.046	0.051	0.048±0.003
	130930	0.058	0.057	0.055	0.057±0.002

中国药典 2010 年版一部中规定麻黄药材中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的总量不得少于 0.80%。结合制剂的制备工艺和 3 批样品的含量测定结果,制定制剂中盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的含量限度为:本品每毫升含麻黄以盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的总量计,不得少于 0.15 mg。

3 讨论

3.1 前处理方法的考察 麻杏口服液为复方制剂,药味较多,参考 2010 年版中国药典一部有关盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱含量测定的成方口服液制剂,取口服液适量以氨水碱化后分别考察了乙醚^[4]、乙酸乙酯、石油醚(30~60℃)为提取溶媒进行提取,测得的干扰峰少,但重复性较差(RSD 为 6.21%),其原因可能为游离麻黄碱亦可溶于水,水中溶解度为 50 mg/ml^[5];又考察了甲醇、乙腈直接稀释后滤过,取续滤液进样,但盐酸伪麻黄碱附近均有杂峰干扰;而以乙腈稀释后离心,发现下层有油状物,此油状物可透过滤膜,干扰目标峰的检测。故最终以离心后取上清液,用 0.01 mol/L 的盐酸溶液稀释后进样,可达到较高的回收率和重现性,且两目标峰附近皆无干扰物质出现。

3.2 色谱柱的确定 选用 C₁₈ 色谱柱进行分析^[4],发现盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的峰宽较大(皆为 0.4 min),理论塔板数只有 3 950,二者的分离度为 1.2,专属性不理想,处方中苦杏仁的相关物质对盐酸伪麻黄碱峰的干扰较大,最后选择极性乙醚连接苯基键合硅胶柱进行分析^[4],该色谱柱对盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的分离度高,峰形良好,两目标峰的理论塔板数皆可达 12 000,分离度为 2.1,适用于盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的测定。

3.3 流动相的确定 采用乙腈-0.2% 磷酸溶液、乙腈-含 0.3% 三乙胺的 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节 pH 至 3.0)、乙腈-0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液及甲醇-0.092% 磷酸溶液(含 0.04% 三乙胺和 0.02% 二正丁胺)^[4]4 个流动相系统对盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱分离情况进行比较,发现都不能有效分离待测色谱峰且基线波动较大。最终确定了分离度较好的乙腈-0.1% 磷酸溶液(含 0.1% 三乙胺)^[4]按梯度进行洗脱,达到满意分离效果。

【参考文献】

[1] 中国人民解放军总后勤部. 中国人民解放军医疗机构制剂规范[S]. 北京:人民军医出版社,2002:35-36.
 [2] 李翔,刘饭阳.HPLC 法测定麻杏口服液中苦杏仁苷的含量[J]. 解放军药学学报,2013,29(1):57-59.
 [3] 边向阳,江希连. 高效液相色谱法测定麻杏口服液中绿原酸和黄芩苷的含量[J]. 海峡药学,2010,22(5):75-76.
 [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:495-496,300-301.
 [5] 王泽民. 当代结构药物全集[M]. 北京:北京科学技术出版社,1993:1620-1621.